

機関番号 : 33916

研究種目 : 基盤研究 (C)

研究期間 : 2008 ~2010

課題番号 : 20591290

研究課題名 (和文) 初感染ならびに再活性化時 HHV-6 脳炎の病態解明

研究課題名 (英文) Analysis of pathogenesis of HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation of the virus

研究代表者 吉川哲史 (YOSHIKAWA TETSUSHI)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号 : 80288472

研究成果の概要 (和文) :

【緒言】 HHV-6 初感染時の脳炎と造血幹細胞移植患者に認められた HHV-6 脳炎症例との病態の相違を明らかにする。

【対象と方法】 対象は初感染時 HHV-6 脳炎・脳症 22 例、HHV-6 初感染による複雑型熱性痙攣 6 例 (HHV-6 FC 群) および HHV-6 感染を否定された複雑型熱性痙攣 19 例 (非 HHV-6 FC 群) の 3 群。いずれも発症後 48 時間以内に脳脊髄液 (CSF) を採取されている。さらに、造血幹細胞移植後 HHV-6 脳炎症例 7 例 (移植後 HHV-6 脳炎群) と成人コントロール 8 例についても検討した。CSF 中 HHV-6 DNA 量は real-time PCR 法により測定。また、CSF 中サイトカイン量 (IL-8、IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 、IL-12p70) は Cytometric Bead Array (CBA) (BD Biosciences) によって、CSF 中 MMP-9 と TIMP-1 は ELISA (Amersham Biosciences) によって測定した。

【結果】 HHV-6 脳炎・脳症 22 例中 7 例 (31.8%) で CSF 中から HHV-6 DNA が検出 (13.2 \pm 39.1 copies/ml) されたが、他の 2 群では HHV-6 FC 群 1 例 (292.5 copies/ml) を除き陽性例はなかった。一方、移植後 HHV-6 脳炎群では全例でウイルス DNA 陽性となり、CSF 中ウイルス DNA 量も 464090.4 \pm 1185622.0 copies/ml と非常に高値く、初感染時 HHV-6 脳炎・脳症群と比較し有意に高値を示した ($P<0.001$)。成人コントロールは全て陰性だった。CSF 中サイトカイン及び MMP-9/TIMP-1 については、初感染時 HHV-6 脳炎・脳症の CSF 中 IL-8 ($P=0.008$)、IL-6 ($P=0.030$) 及び MMP-9 ($P=0.004$) と TIMP-1 ($P=0.002$) が非 HHV-6 FC 群と比較して有意に高値を示した。しかしながら、初感染時 HHV-6 脳炎・脳症の CSF 中サイトカイン、MMP-9 は、HHV-6 FC 群と比較して有意な差を認めなかった。また、HHV-6 FC 群、非 HHV-6 FC 群間では CSF 中のこれらバイオマーカー濃度に差はなかった。

【考察】 HHV-6 脳炎は初感染時と再活性化時 (移植患者での脳炎) では病態が異なることが推察された。

研究成果の概要 (英文) :

Background: Pathogenesis of human herpesvirus 6 (HHV-6) encephalitis, in particular difference between HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation remains unclear.

Objectives: To elucidate the mechanism of HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation.

Study design: Twenty-two HHV-6 encephalitis patients at the time of primary infection, 6 febrile convulsion (FC) patients caused by HHV-6 infection, and 14 FC patients without HHV-6 infection (non HHV-6 FC) were enrolled. Additionally, 7 stem cell transplant recipients with HHV-6 encephalitis and eight adult controls were also enrolled in this study. Cerebrospinal fluid (CSF) HHV-6 DNA copy numbers and biomarkers levels were compared.

Results: Low copy number of CSF HHV-6 DNA was detected in 7 of the 22 patients with HHV-6 encephalitis in primary infection, whereas all seven CSF samples collected from post-transplant HHV-6 encephalitis patients contained high viral DNA copy numbers ($P<0.001$). CSF concentrations of IL-6 ($P=0.032$), IL-8 ($P=0.014$), MMP-9 ($P=0.004$), and TIMP-1 ($P=0.002$) were significantly higher in

patients with HHV-6 encephalitis in primary infection than non-HHV-6 FC. CSF IL-6 ($P=0.008$), IL-8 ($P=0.015$), and IL-10 ($P=0.019$) concentrations were significantly higher in patients with post-transplant HHV-6 encephalitis than adult controls.

Conclusion: The present study suggests that the characteristics of HHV-6 encephalitis is different between HHV-6 encephalitis at the time of primary infection and reactivation in transplant recipients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：HHV-6、初感染、移植後脳炎、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

初感染時、再活性化時の HHV-6 脳炎が臨床的に大きな問題になっているにもかかわらず、その病態は不明。HHV-6B 初感染時の小児 HHV-6 脳炎症例はわが国で年間 100 例ほど発生しており、その頻度はインフルエンザ脳症に次いで二番目である。また、予後不良例がかなりを占め、全体の約半数に及ぶ。一方で、移植後の HHV-6 脳炎例は主に成人領域で重大な問題となっており、特に造血幹細胞移植患者における移植後急性辺縁系脳炎の主要な起因病原体として認識されている。

2. 研究の目的

HHV-6 初感染時の脳炎と造血幹細胞移植患者に認められた HHV-6 脳炎症例との病態の相違を明らかにする。

3. 研究の方法

対象は初感染時 HHV-6 脳炎・脳症 22 例、HHV-6 初感染による複雑型熱性痙攣 6 例 (HHV-6 FC 群) および HHV-6 感染を否定された複雑型熱性痙攣 19 例 (非 HHV-6 FC 群) の 3 群。いずれも発症後 48 時間以内に脳脊髄液 (CSF) を採取されている。さらに、造血幹細胞移植後 HHV-6 脳炎症例 7 例 (移植後 HHV-6 脳炎群) と成人コントロール 8 例についても検討した。CSF 中 HHV-6 DNA 量は real-time PCR 法により測定。また、CSF 中サイトカイン量 (IL-8、IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 、IL-12p70) は Cytometric Bead Array (CBA) (BD

Biosciences) によって、CSF 中 MMP-9 と TIMP-1 は ELISA (Amersham Biosciences) によって測定した。

4. 研究成果

HHV-6 脳炎・脳症 22 例中 7 例 (31.8%) で CSF 中から HHV-6 DNA が検出 (13.2 \pm 39.1 copies/ml) されたが、他の 2 群では HHV-6 FC 群 1 例 (292.5 copies/ml) を除き陽性例はなかった。一方、移植後 HHV-6 脳炎群では全例でウイルス DNA 陽性となり、CSF 中ウイルス DNA 量も 464090.4 \pm 1185622.0 copies/ml と非常に高く、初感染時 HHV-6 脳症・脳炎群と比較し有意に高値を示した ($P<0.001$)。成人コントロールは全て陰性だった。CSF 中サイトカイン及び MMP-9/TIMP-1 については、初感染時 HHV-6 脳炎・脳症の CSF 中 IL-8 ($P=0.008$)、IL-6 ($P=0.030$) 及び MMP-9 ($P=0.004$) と TIMP-1 ($P=0.002$) が非 HHV-6 FC 群と比較して有意に高値を示した。しかしながら、初感染時 HHV-6 脳炎・脳症の CSF 中サイトカイン、MMP-9 は、HHV-6 FC 群と比較して有意な差を認めなかった。また、HHV-6 FC 群、非 HHV-6 FC 群間では CSF 中のこれらバイオマーカー濃度に差はなかった。

よって、以上のような研究結果から、HHV-6B 脳炎は初感染時の小児脳炎例と再活性化時の脳炎例では病態が異なり、小児初感染時 HHV-6B 脳炎は主に宿主免疫反応が重要な役割を果たしていると考えられ、治療戦略

も抗サイトカイン療法を基本として組み立てるのがベターと思われる。一方、成人に見られる移植後HHV6脳炎は中枢神経系でのウイルス増殖が基本であり、よって治療戦略も抗ウイルス療法を柱として構築するのが望ましいと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Kinetics of the cytokines and chemokines in cases with primary HHV-6 infection. Yoshikawa T, Sugata K, Asano Y, Ihira M, Kumagai T. J Clin Virol 2011 50(1):65-8. (査読有)
- ② Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, Mihara T, Mutoh T, Asano Y, Yoshikawa T J Clin Virol 2011, 51(1):12-9. (査読有)
- ③ High incidence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy for Adult T cell leukemia. Ogata M, Satou T, Kawano R, Yoshikawa T, Ikewaki J, Kohno K, Ando T, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Kikuchi H, Saikawa T, Kadota J. J Med Virol. 2011 ;83:702-9. (査読有)
- ④ Detection of six human herpesvirus DNAs in the cerebrospinal fluid of non-herpetic acute limbic encephalitis patients. Yoshikawa T, Asano Y, Takahashi Y. Microbiol Immunol 2010, 54:471-4. (査読有)
- ⑤ Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by variant specific loop-mediated isothermal amplification in hematopoietic stem cell transplant recipients. Ihira M, Sugiyama H, Enomoto Y, Higashimoto Y, Sugata K, Asano Y, Yoshikawa T. J Virol Methods. 2010 167:103-6. (査読有)
- ⑥ Nationwide survey of exanthem subitum-associated encephalitis in Japan. Yoshikawa T, Ohashi M, Miyake F, Funjita A, Usui C, Sugata K, Suga S, Hashimoto S, Asano Y. Pediatr Neurol 2009 ;41:353-8. (査読有)
- ⑦ Primary infection of human herpesvirus-6 in an infant who received cord blood SCT. Muramatsu H, Watanabe N, Matsumoto K, Ito M, Yoshikawa T, Kato K, Kojima S. Bone Marrow Transplant. 2009 ;43:83-4. (査読有)
- ⑧ Relationship between U83 gene variation in human herpesvirus 6 and secretion of the U83 gene product. Sjahril R, Isegawa Y, Tanaka T, Nakano K, Yoshikawa T, Asano Y, Ohshima A, Yamanishi K, Sugimoto N. Arch Virol. 2009 ;154:273-83. (査読有)
- ⑨ Human herpesvirus 6 infection in adult living related liver transplant recipients. Ohashi M, Sugata K, Ihira M, Asano Y, Egawa H, Takada Y, Uemoto S, Yoshikawa T. Liver Transplant 2008 14:100-9. (査読有)
- ⑩ Multicenter comparison of PCR assays for the quantitation of human herpesvirus 6 DNA in serum. Flamand L, Gravel A, Boutelleau D, Alvarez-Lafuente R, Jacobson S, Malnati MS, Kohn D, Tang UW, Yoshikawa T, Ablashi DV. J Clin Microbiol 2008 ; 46:2700-6. (査読有)
- ⑪ Elevated serum cytokine levels are associated with human herpesvirus 6 reactivation in hematopoietic stem cell transplantation recipients. Fujita A, Ihira M, Suzuki R, Enomoto Y, Sugiyama H, Suga S, Asano Y, Yagasaki H, Kojima S, Matsumoto K, Kato K, Yoshikawa T. J Infect. 2008 ; 57:241-8. (査読有)
- ⑫ Loop-mediated isothermal amplification for discriminating between human herpesvirus 6 A and B. Ihira M, Ohta A, Sugata K, Suga S, Asano Y, Yoshikawa T. J Virol Method 2008 ;154:223-5. (査読有)

[学会発表] (計 11 件)

- ① Yoshikawa T. Diagnosis of HHV- 6 Reactivation in Transplant Recipients; Critical Point to Determine Precise Role of the Virus in Causing Disease, 7th International, Conference on HHV-6&7, February 27th-March 2nd /2011 Virginia
- ② 榎本喜彦、杉山博子、井平勝、吉川哲史. 悪性リンパ腫組織におけるHHV-6 存在様式の検討、第 58 回日本ウイルス学会、2010 年 11 月 7 日~9 日 徳島
- ③ Yoshikawa T, Ihira M, Kumagai T, Asano Y. Kinetics of Cytokine and Chemokine Responses in Patients with Primary Human Herpesvirus 6 Infection. 35th Annual International Herpesvirus Workshop, July

24-29/2010 Salt Lake City

- ④ 吉川哲史、菅田健、中井英剛、河村吉紀、井平勝、浅野喜造. Real-time RT-PCR法によるHHV-6 遺伝子発現の解析、第 51 回 日本臨床ウイルス学会、2010 年 6 月 19 日 高松
- ⑤ 河村吉紀、中井英剛、菅田健、吉川哲史、浅野喜造. 異なる臨床病型を示した 3 例のHHV-6 脳症におけるサイトカインプロファイル比較、第 51 回 日本臨床ウイルス学会、2010 年 6 月 19 日 高松
- ⑥ 吉川哲史、菅田 健、中井英剛、熊谷卓司、浅野喜造. HHV-6 初感染時の血清中サイトカイン・ケモカインの動態解析、第 41 回日本小児感染症学会学術集会、2009 年 11 月 14 日~15 日、福井、福井
- ⑦ 吉川哲史、井平 勝、菅田 健、浅野喜造. 造血幹細胞移植後CMV、EBV、HHV-6 再活性化制御機構の解明、第 57 回日本ウイルス学会学術集会、2009 年 10 月 25 日~27 日、東京、東京
- ⑧ Kawamura Y, Asano Y, Yoshikawa T, Sugata K, Ihira M. Pathogenesis of human herpesvirus 6 encephalitis; difference etween primary infection and reactivation 34th International Herpesvirus Workshop July /25-31/2009, Ithaca, New York
- ⑨ 吉川哲史、熊谷卓司、菅田 健、井平 勝、浅野喜造. HHV-6 初感染時の血清中サイトカイン・ケモカインの動態解析、第 50 回日本臨床ウイルス学会、2009 年 6 月 13 日~14 日、高知、高知
- ⑩ Yoshikawa T. HHV-6 infection in transplant recipients International Symposium on Solvent-induced Severe Hypersensitivity Reactions and HHV-6 reactivation November 29-30/2008 Nagoya, Japan
- ⑪ Yoshikawa T. HHV-6 and HHV-7 infections in transplant recipients. 6th International Conference on HHV-6 and 7 June 19-22/2008, Baltimore, Maryland

[その他]

ホームページ等

藤田保健衛生大学医学部小児科

<http://www.fujita-hu.ac.jp/~pedia/00.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉川 哲史 (YOSHIKAWA TETSUSHI)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：80288472

(2)研究分担者

井平 勝 (IHIRA MASARU)

藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授

研究者番号：10290165